REMOÇÃO DE *Escherichia coli* DE EFLUENTES DE CARCINICULTURA POR MACRÓFITAS AQUÁTICAS FLUTUANTES (*Eichhornia crassipes* E *Salvinia molesta*)

Fernanda de Rezende Pinto[1], Matheus Nicolino Peixoto Henares[2], Claudinei da Cruz[3], Luiz Augusto do Amaral[4], Bruna Bueno Canepari[5], Suzana Naomi Honda[5], Pedro Gatti Junior[5], Anderson Spimpolo Malta[5] & Carolina de Freitas Sampaio[5]

RESUMO - Os efluentes gerados pelo cultivo de camarões podem provocar impactos negativos nos ecossistemas aquáticos, devido à presença de altas concentrações de compostos inorgânicos e orgânicos e patógenos. Os sistemas de tratamentos de efluentes com macrófitas aquáticas é uma alternativa viável para minimizar estes impactos. Assim, objetivou-se avaliar a eficiência de um sistema de tratamento com duas espécies de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes* e *Salvinia molesta*) na remoção da *Escherichia coli* do efluente de carcinicultura e quantificar a concentração de coliformes termotolerantes nas raízes das macrófitas. Os sistemas de tratamento foram constituídos por 9 unidades experimentais (três com *E. crassipes*, três com *S. molesta* e três com *E. crassipes* e *S. molesta*). A determinação do número mais provável de *E. coli* foi realizada segundo a técnica do substrato cromogênico-fluorogênico-hidrolizável. A determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes presentes nas raízes das macrófitas foi realizada pela técnica dos tubos múltiplos. O tratamento dos efluentes reduziu significativamente a contaminação por *E. coli*. Entre os três tratamentos avaliados, as unidades experimentais apenas com *E. crassipes* apresentaram melhores resultados, pois removeram maior porcentagem de *E. coli* dos efluentes tratados (88,23%) e as raízes dessa macrófita retiram maior quantidade de coliformes termotolerantes.

ABSTRACT – The effluent from the of shrimp farms is responsible of negatives impacts in aquatic ecosystems, because of height levels of inorganic and organic compounds and pathogens. The aquatic macrophyte effluent treatment systems is an alternative to minimization of this impacts. The objective of this study was to evaluate the efficiency of the treatment system with two species of aquatic floating macrophytes (*Eichhornia crassipes* e *Salvinia molesta*) in the removal of *Escherichia coli* in the effluents of a shrimp farms and quantificate the concentration of the termotolerant coliforms in the macrophytes's roots. The treatment system was made of nine box (3 with *E. crassipes*, 3 with *S. molesta* and 3 with *E. crassipes* and *S. molesta).* The analysis of *E. coli* were performed with the substrate cromogenic-fluorogenic-hidrolized technique. The most probable number of termotolerant coliforms in the roots of macrophytes was performed with the multiple tubes technique. The treatments effluents reduced the *E. coli* contamination. Among the 3 treatments available, the box containing only *E. crassipes* showed the better results, because it removed the greater percent of *E. coli* of the treated effluents (88,23%) and it's roots retain higher quantities of termotolerant coliforms.

Palavras-chave: Coliformes, macrófitas, tratamento de efluentes.

1) Médica veterinária, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária Preventiva, FCAV/UNESP, Via de Acesso Paulo Donato Castellani, s/n. CEP: 14870-000, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail f_rezendevet@yahoo.com.br
2) Biólogo, Mestrando do Programa de Aqüicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
3) Biólogo, Pós doutorando da FAPESP do Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
4) Médico veterinário, Prof. Dr. do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
5) Acadêmicos de graduação em Ciências Biológicas da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

1 - INTRODUÇÃO

A aqüicultura é definida como o cultivo de organismos aquáticos, incluindo peixes, moluscos, crustáceos, anfíbios e macrófitas aquáticas. Atualmente, apresenta-se como a atividade de maior crescimento entre os demais setores de produção animal (FAO, 2002).

Os principais problemas ambientais causados pelo aumento da produção aqüicola advêm da necessidade de aumento da produtividade e da rentabilidade do setor. Assim, o acréscimo das taxas de estocagem nos diversos sistemas de produção vem intensificando as taxas de arraçoamento e, conseqüentemente, alterando a qualidade da água e as características dos seus efluentes (EMBRAPA, 2006).

Segundo Ranzani-Paiva *et al.,* (1997) um dos problemas econômicos e ecológicos da aqüicultura está associado aos patógenos e parasitos que acompanham as espécies cultivadas. A presença desses patógenos, incluindo os microrganismos de origem fecal nos efluentes aqüicola está relacionados à utilização de água contaminada para a produção, além da possível contaminação exógena dos viveiros de cultivo.

Assim, o não tratamento desses efluentes e sua destinação incorreta vêm contribuindo para o agravamento dos problemas ambientais e de saúde da população humana. Diante disso, muitos trabalhos foram desenvolvidos na busca de tecnologias capazes de minimizar a contaminação dos efluentes antes de seu lançamento nos corpos receptores (Cunha, 2006).

No Brasil, a Resolução do CONAMA nº 357 exige que os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, diretos ou indiretamente, nos corpos d'água, após o devido tratamento (Brasil, 2005).

Entre os diversos sistemas de tratamento de efluentes existentes, podemos destacar aqueles que utilizam macrófitas aquáticas visando à melhoria da qualidade de águas residuais, principalmente, buscando a redução das concentrações de poluentes inorgânicos, metais pesados, substâncias tóxicas, além de microrganismos patógenos, como os coliformes termotolerantes e a *Escherichia coli* (Almeida e Almeida, 2005; Diniz *et al*., 2005; Hussar *et al*., 2005; Ottoson *et al*., 2005).

Esse tipo de sistema é uma ótima opção para o tratamento de diferentes tipos de efluentes, pois apresenta baixo custo de implantação e consumo de energia, simplicidade de instalação e operação e menor uso de processos químicos intensivos (Cunha, 2006). Os poluentes são removidos por meio de uma combinação de processos físicos, químicos e biológicos incluindo a sedimentação, precipitação, adsorção de partículas, assimilação pelo tecido da planta e transformação bacteriana (Brix, 1993).

Nos sistemas que utilizam as macrófitas aquáticas flutuantes, a ação depuradora ocorre devido à absorção de nutrientes e metais pelas raízes, pelo transporte de oxigênio para a rizosfera e pela ação de microrganismos associados. Uma das espécies mais estudada é o aguapé (*E. crassipes*), devido sua capacidade de sobreviver em águas altamente poluídas, com grande variação de nutrientes, pH, substâncias tóxicas, metais pesados e variações de temperatura (Salati, 2000).

Diversos trabalhos comprovaram a eficiência das macrófitas aquáticas no tratamento de efluentes (Weber e Tchobanoglous, 1985; Brix e Schierup, 1989; Farahbakhshazad, 2000). Esse sucesso deve-se à elevada capacidade de algumas espécies em assimilar e estocar nutrientes e as suas altas taxas de produção primária (Greenway, 1997).

Essas características tornam as macrófitas aquáticas atrativas do ponto de vista econômico, pois o excesso de biomassa vegetal produzido pode ser aproveitado na produção de papel (Morton, 1975), na alimentação animal (El-Sayed, 1999), na produção de biogás (Wolverton e MacDonald, 1979) e sanitário, devido sua capacidade de remover bactérias indicadoras de poluição fecal na água (Tripathi e Shukla, 1991).

Existem vários microrganismos que a presença no sistema hídrico indica uma forma qualquer de poluição. Entre eles, as bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes (fecais), são utilizadas como indicadores de poluição fecal, por serem originárias do intestino de aves e mamíferos, inclusive do ser humano. A bactéria *Escherichia coli* caracteriza-se por ser exclusiva da microbiota intestinal, além de estar presente em ambientes contaminados por material fecal (Kuhn *et al*., 2003). A *E. coli* pode ser determinada em substituição ao parâmetro de coliformes termotolerantes (Brasil, 2005).

Alguns trabalhos indicam a capacidade das macrófitas aquáticas de remover microrganismos patogênicos da água: reduções de coliformes em esgoto doméstico e industrial com a utilização de aguapé (*E. crassipes*) (Tripathi e Shukla, 1991); reduções de coliformes termotolerantes entre 35 e 98% e de estreptococos fecais entre 35 e 88%, após a passagem da água pelo banco de macrófitas formado por *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Typha* spp. (Diniz *et al*., 2005).

Segundo Manfrinato (1991), o sistema radicular do aguapé (*E. crassipes*) funciona como um filtro mecânico que retém material particulado (orgânico e mineral) existentes na água, além de criar um ambiente rico em atividades de fungos e bactérias, passando a ser um agente de despoluição, reduzindo a taxa de coliformes da água. Outro fator, que favorece a remoção de poluentes em lagoas de aguapé decorre da existência de abrigo e condições para o crescimento de uma abundante biota agregada (perifíton) às suas raízes e folhas, tendo um papel importante na degradação, assimilação e remoção dos poluentes (Romitelli, 1983).

No Brasil, espécies como *Eichhornia crassipes* e *Salvinia molesta* são abundantes e amplamente distribuídas, ocorrendo tanto, em ecossistemas aquáticos naturais como, em ambientes aquáticos impactados por atividades antrópicas (Henry-Silva e Camargo, 2000).

As macrófitas aquáticas poderiam ser empregadas como biofiltros para a remoção de microrganismos patogênicos da água, especialmente, em sistemas de produção aqüicola, permitindo a liberação de um efluente com menor contaminação microbiológica nos corpos receptores ou melhorando a qualidade da água a ser reutilizada no próprio sistema de criação.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência das macrófitas aquáticas flutuantes (*E. crassipes*, *Salvinia molesta* e a *E. crassipes* juntamente com *S. molesta*, arranjados em série) na remoção da bactéria (*E. coli*) no efluente de viveiro de camarões de água doce (*Macrobrachim amazonicum*) e presença de bactérias coliformes termotolerantes nas raízes das macrófitas.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Faculdade de Ciências Agrárias de Veterinárias da Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP (21º 18' S e 48º 18' W), no Setor da Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da Unesp, durante 60 dias (março e abril de 2007). As macrófitas aquáticas flutuantes foram coletadas em ecossistemas lóticos bem preservados localizados na bacia do Itanhaém no Estado de São Paulo (24º 11' S e 46º 48' W).

O efluente utilizado foi proveniente de um viveiro de 200 m^2 com reprodutores de camarão de água doce (*M. amazonicum*), com manejo alimentar efetuado manualmente, *ad libitum,* duas vezes ao dia com ração peletizada comercial.

O sistema de tratamento do efluente constituiu-se de nove unidades experimentais de fibra de vidro com dimensões de 1,0 m de largura, 2,0 m de comprimento e 0,5 m de profundidade. O tempo de residência do efluente em cada unidade foi de aproximadamente 12 horas com vazão de 1,4L.minuto^{-1}.

O delineamento experimental constituiu-se de três tanques com *E. crassipes*, três com *S. molesta* e três com *E. crassipes* + *S. molesta.* Nos nove tanques, a biomassa preencheu aproximadamente 80% da superfície das unidades experimentais. No tratamento com as duas plantas, as macrófitas foram dispostas em série permitindo que o efluente passasse primeiro por *E. crassipes* e em seguida pela *S. molesta*.

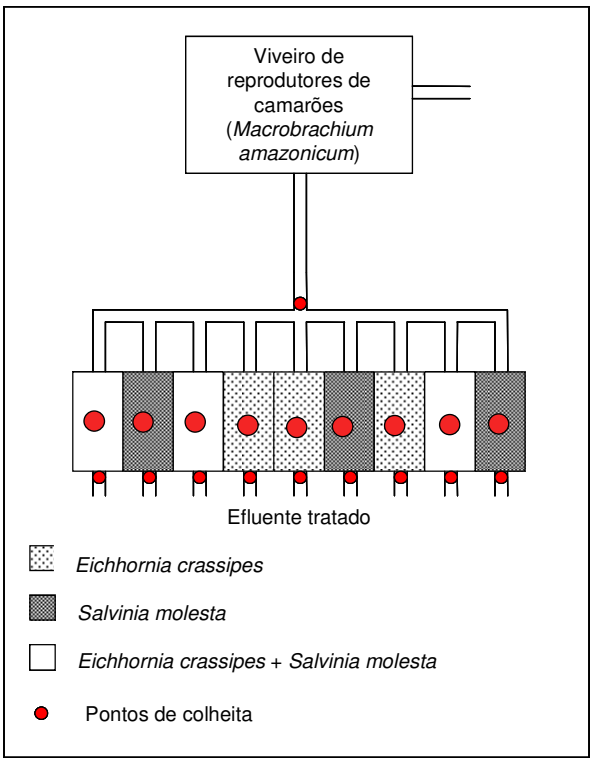

Figura 1– Esquema do delineamento experimental utilizado no tratamento do efluente.

A porcentagem de remoção de *Escherichia coli* das amostras de efluentes tratados foi calculada pela equação:

$$R = 100-[(100 \times C_{etrat})/ C_e] \quad (1)$$

Onde:

R = Porcentagem de remoção;

C_{etrat} = NMP/100 mL de *E. coli* no efluente tratado;

C_e = NMP/100 mL de *E. coli* no efluente do viveiro.

3.1 - Determinação do número mais provável (NMP) de *Escherichia coli* nas amostras dos efluentes tratados pelas macrófitas (APHA, 1998)

Para a determinação do NMP de *E. coli,* semanalmente, entre 8:00 e 9:00 horas, foram colhidas as amostras do efluente gerado pelo viveiro e dos efluentes tratados pelas macrófitas. As amostras do efluente não tratado e tratado pelas macrófitas foram colhidas de maneira asséptica, diretamente dos tanques em frascos de vidro esterilizados com capacidade de 250 mL.

A determinação do NMP de *E. coli* foi realizada segundo a técnica do substrato cromogênico-fluorogênico-hidrolizável. Para tanto, 100 mL da amostra d efluente foi misturada ao meio de cultura (Colilert - IDEXX Quanti-Tray™) e após homogeneização, a mistura foi transferida para a cartela (IDEXX Quanti-Tray™) e selada em seladora específica (IDEXX Quanti-Tray™; mod. 1925.00 1E-E). Em seguida, as cartelas foram incubadas a 35° C, por 24 horas. A seguir, foi

determinado o NMP de *E. coli* por 100 mL de amostra pelo número de células que apresentarem fluorescência após exposição da cartela aos raios ultra-violeta (U.V.), com utilização de tabela de NMP específica.

3.2 - Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes nas amostras de raiz das macrófitas pela técnica dos tubos múltiplos (APHA, 2001)

Para a determinação do NMP de coliformes termololerantes, foram colhidas porções de raiz das macrófitas dos três tanques de cada tratamento, fazendo-se um "pool" de raiz por tratamento. No tratamento com *E. crassipes* e *S. molesta* juntas, foram colhidas amostras separadas para cada uma das espécies vegetais. As raízes foram colhidas com auxílio de tesoura e pinça estéreis e acondicionadas em frascos de vidros previamente esterilizado.

A seguir, 25 g da amostra das raízes foram pesados dentro de um frasco de vidro com 225 mL de água peptonada 0,1% estéril, obtendo-se a diluição 10^{-1} da amostra. Foram realizadas diluições seriadas até 10^{-3}. Para tanto, 1,0 mL da diluição 10^{-1} foi transferido para um tubo de ensaio contendo 9,0 mL de água peptonada 0,1% esterilizada, obtendo-se assim a diluição $10^{-2.}$ A partir dessa diluição, do mesmo modo, obteve-se a diluição 10^{-3}.

Para realização do teste presuntivo para coliformes termotolerantes, 1,0 mL de cada uma das diluições foi inoculado, respectivamente, em três tubos contendo caldo lauril sulfato triptose com tubo de Durhan invertido. Após a inoculação, os tubos foram incubados a 35ºC, por 24 a 48 horas e foram considerados positivos os tubos que apresentaram desenvolvimento bacteriano, caracterizado por turvação do meio de cultura e produção de gás.

A partir de cada tubo positivo no teste presuntivo, realizou-se o teste confirmativo para coliformes termotolerantes, transferindo-se, com alça de níquel-cromo de 3,0 mm de diâmetro, uma alíquota da cultura para tubo correspondente contendo caldo EC e tubo de Durhan invertido. Os tubos com caldo EC foram incubados em banho-maria a 45,5 ± 0,2ºC, por 24 horas, sendo considerados positivos os tubos que apresentaram turvação do meio e produção de gás. Os resultados, expressos em NMP/g, foram obtidos por comparação dos números de tubos positivos com dados da tabela de Hoskin.

3.3 - Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos de *E. coli* e de coliformes termotolerantes foram submetidos a distribuição normal e suas médias geométricas foram transformadas em log (x + 1,5). Essas médias foram submetidas a análise de variância (ANOVA) e as comparações das médias foram realizadas pelo Teste de Tukey 5%.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

As médias geométricas dos números mais prováveis (NMP) de *Escherichia coli* das amostras do efluente do viveiro e dos efluentes dos tanques de tratamento com as macrófitas e a porcentagem de remoção de *E. coli* nos efluentes tratados estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Na Tabela 1 verifica-se redução significativa nas médias geométricas dos NMP de *E. coli* nos efluentes dos tanques de tratamento, em relação ao efluente do viveiro de carcinicultura. O tratamento com a utilização do aguapé (*E. crassipes*) apresentou a menor contaminação por *E. coli* em seus efluentes. Não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos constituídos por *Salvinia molesta* e pelo consórcio das macrófitas *Eichhornia crassipes* e *Salvinia molesta*.

Tabela 1. Médias geométricas, coeficiente de variação e teste F dos números mais prováveis de *Escherichia coli* nas amostras de efluente do viveiro e dos efluentes dos tanques de tratamento com as macrófitas.

Tratamentos	**NMP/100 mL de *Escherichia coli***
Efluente do viveiro	8,5 x 10 A
Eichhornia crassipes	1,0 x 10 C
Salvinia molesta	2,0 x 10 B
Eichhornia crassipes + Salvinia molesta	1,8 x 10 B
Coeficiente de variação (C.V.)	21,27
Teste F	36,32 **

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey. ** significativo em nível de 1% de probabilidade.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com diversos autores que também obtiveram redução na contaminação de efluentes após tratamento com as macrófitas aquáticas *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Typha* spp (Diniz *et al*., 2005; Cunha, 2006) e também por sistemas de tratamento com as macrófitas aquáticas enraizadas em substrato *Typha angustifolia*, *Hedychium coronariun* e *Coix lacryma-jobi* (Almeida e Almeida, 2005), *Typha* spp (Brasil *et al*., 2005; Hussar *et al*., 2005).

A legislação brasileira não determina limites de coliformes termotolerantes para os efluentes de carcinicultura. No entanto, a contribuição do efluente não pode elevar a contagem dessa bactéria nos corpos d'água receptores acima do limite determinado para a classe 2 (10^3 NMP/100 mL) (Brasil, 2005). Assim, tanto os efluentes do viveiro como os efluentes dos tratamentos com macrófitas encontram-se de acordo com a legislação para a água de classe 2

(aqüicultura e pesca), porém a utilização do tratamento de efluente com as macrófitas, realizado neste trabalho, indica a melhoria na qualidade do efluente final a ser lançado no corpo receptor, permitindo que maiores quantidades deste efluente possa ser liberado sem alterar as características a água.

Conforme observado na Tabela 2, as amostras de efluentes dos tanques de tratamento constituídos por *Eichhornia crassipes* apresentaram a maior porcentagem de remoção (88,23%) das médias geométricas dos NMP de *Escherichia coli*. O tratamento com *Salvinia molesta* apresentou a menor porcentagem de remoção de *E. coli* dos efluentes (76,47%).

Tabela 2. Porcentagem de remoção de *Escherichia coli* do efluente após os tratamentos.

Tratamentos	**Porcentagem de remoção**
Eichhornia crassipes	88,23%
Salvinia molesta	76,47%
Eichhornia crassipe + Salvinia molesta	78,82%

Porcentagens de redução semelhantes foram descritas por Diniz *et al*. (2005), que verificaram reduções de coliformes termotolerantes entre 35 e 98% e de estreptococos fecais entre 35 e 88%, após a passagem da água pelo banco de macrófitas formado por *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Typha* spp.; redução de 94% dos coliformes também em um sistema de tratamento com zona de raízes e atribuiu a redução à morte natural dos microrganismos em ambiente desfavorável e ao efeito tóxico de secreções radiculares sobre eles (Van Kaick, 2002); e remoção acima de 99,5% de coliformes totais e fecais com a utilização de zona de raízes com fluxo subsuperficial das macrófitas *Typha angustifolia*, *Hedychium coronariun* e *Coix lacryma-jobi* (Almeida e Almeida, 2005).

As médias geométricas dos NMP de coliformes termotolerantes presentes nas amostras de raízes das macrófitas aquáticas nos tanques de tratamento estão apresentadas na Tabela 3.

Na Tabela 3, verifica-se que não ocorreu diferença significativa nas médias geométricas dos NMP de coliformes termotolerantes nas amostras das raízes das duas espécies de macrófitas nos diferentes tratamentos utilizados. O NMP dos coliformes variou de 40/g de raízes de *E. crassipes*, no consórcio constituído por *E. crassipes* + *S. molesta* a 210/g de raízes do tratamento apenas com o aguapé (*E. crassipes*).

Tabela 3. Médias geométricas dos números mais prováveis de coliformes termotolerantes nas amostras de raízes das macrófitas dos tanques de tratamento, coeficiente de variação e teste F.

Macrófitas	**NMP/1,0 g de coliformes termotolerantes**
Eichhornia crassipes	$2{,}1 \times 10^2$ A
Eichhornia crassipes (E. crassipes + S. molesta)	4,0 x 10 A
Salvinia molesta	7,1 x 10 A
Salvinia molesta (E. crassipes + S. molesta)	5,4 x 10 A
Coeficiente de variação (C.V.)	46,46
Teste F	$1{,}23^{ns}$

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais comparadas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey. ^{ns} não significativo.

A partir dos resultados apresentados nas tabelas 1 e 3, pode-se sugerir que as raízes das macrófitas *E. crassipes* e *S. molesta* funcionaram como um filtro para a *E. coli* presente no efluente do viveiro, pois apresentou concentrações de coliformes termotolerantes, em seu perifiton.

Segundo Chernicharo (2001), na passagem da água pelas raízes das macrófitas, estas agem como uma barreira física a manutenção do curso da água, diminuindo a velocidade de avanço, em direção à saída do tanque, fazendo com que os sedimentos e poluentes precipitem, inclusive as bactérias ali presentes. Desta maneira, os coliformes podem ser capturados pelas raízes das plantas.

Segundo Diniz *et al*. (2005), as macrófitas exerceram efeito filtrador significativo sobre bactérias indicadoras de poluição fecal devido suas raízes ficarem cobertas com material orgânico e mucilaginoso permitindo a formação da comunidade perifítica conforme o observado nas raízes das macrófitas utilizadas neste trabalho.

Para Emiliani (2004) as altas concentrações de *E. coli* nas raízes da *E. crassipes* sugerem que a maior ou menor cobertura d'água com essa macrófita flutuante podem influenciar as concentrações dessa bactéria nos corpos d'água. A abundância de coliformes termotolerantes nas raízes de plantas aquáticas pode também representar uma associação benéfica para as macrófitas devido à capacidade de algumas espécies de coliformes termotolerantes de fixar N_2. Assim, os coliformes também se beneficiam pela alta provisão de nutrientes originários das plantas e proteção de radiação solar no ambiente aquático (Wrigth e Weaver, 1981).

5 - CONCLUSÕES

Os três tratamentos utilizados para remoção de *E. coli* dos efluentes do viveiro de carcinicultura apresentaram bons resultados, principalmente, o tratamento constituído pela

macrófita aguapé (*E. crassipes*), que apresentou a maior porcentagem de remoção de *E. coli* e maior retenção de coliformes termotolerantes em suas raízes.

Todos os efluentes tratados apresentaram-se de acordo com a legislação brasileira para descarte de efluentes em corpos receptores da classe 2. Desse modo, esse sistema de tratamento pode ser utilizado como uma alternativa eficiente, simples e de baixo custo no tratamento de efluente de carcinicultura.

BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, R.A.; ALMEIDA, N.A.M. (2005). *"Remoção de coliformes do esgoto por meio de espécies vegetais"*. Revista eletrônica de enfermagem, v. 7, n. 3, pp. 306-317.

APHA (1998). "*Standard methods for the examination of water and wastewater.*" American Public Health Association, Washington, 1220 p.

APHA (2001). *"Compendium of methods for the microbiological examination of foods"*. American Public Health Association, Washington, 676 p.

BRASIL (2005). Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. *"Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências"*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília DF, 18 Mar. 2005. Seção Resoluções, p. 19.

BRASIL, M.S.; MATOS, A.T.; SOARES, A.A.; FERREIRA, P.A. (2005). "*Qualidade do efluente de sistemas alagados construídos, utilizados no tratamento de esgoto doméstico"*. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.9, pp. 133-137.

BRIX, H.; SCHIERUP, H.H. (1989). *"The use of aquatic macrophytes in water - pollution control."* Ambio, v. 15, pp. 100-107.

BRIX, H. (1993). *"Wastewater treatment in constructed wetlands: system design, removal processes, and treatment performance", in*: *Constructed wetlands for water quality improvement.* MOSHIRI, G.A. ed. CRC Press, Boca Raton, pp. 9-23.

CHERNICHARO, C.A.L.(1998). "*Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios"***.** UFMG, Belo Horizonte - MG, 544 p.

CUNHA, C.A.G. (2006). *"Análise de eficiência de um sistema combinado de alagados construídos na melhoria da qualidade das águas*". Dissertação de mestrado apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, USP.

DINIZ; C.R.; CEBALLOS, B.S.O.; BARBOSA, J.E.L.; KONIG, A. (2005). *"Uso de macrófitas aquáticas como solução ecológica para melhoria da qualidade de água"*. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 9, pp. 226-230.

EL-SAYED, A.F.M. (1999). *"Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, Oreochromis spp."* Aquaculture, v. 179, pp. 149-168.

EMBRAPA. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. (2006). "*Problemas e oportunidades*." Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/projetos>. Acesso em 25 de Fev. 2006.

EMILIANI, F.(2004). *"Effects of hydroclimatic anomalies on bacterial quality of the Middle Paraná River (Santa Fe, Argentina)"*. Revista Argentina de Microbiologia, v. 36, pp. 193-201.

FAO. Food agriculture organization. (2002). "*World review of fisheries and aquaculture*." Disponivel em : <http://www.fao.org/>. Acesso em: 30 de Mai. 2007.

FARAHBAKHSHAZAD, N. (2000). *"Nutrient removal in a vertical upflow wetland in Piracicaba, Brazil."* Ambio, v. 29, pp. 74-77.

GREENWAY, M. (1997). *"Nutrient content of wetland plants in constructed wetlands receiving municipal effluent in tropical Australia."* Water Science and .Technology., v. 35, n. 5, pp. 135-142.

HENRY-SILVA, G.G.; CAMARGO, A.F.M. (2002). *"Valor nutritivo de macrófitas aquáticas flutuantes (Eichhornia crassipes, Pistia stratiotes e Salvinia molesta) utilizadas no tratamento de efluentes de aqüicultura"*. Acta Scientiarum, v. 24, n. 2, pp. 519-526.

HUSSAR, G.J.; PARADELA, A.L.; JONAS, T.C.; RODRIGUES, J.P. (2005). *"Tratamento da água de escoamento de tanque de piscicultura através de leitos cultivados de vazão subsuperficial: análise da qualidade física e química"*. Engenharia Ambiental, v. 2, n. 1, pp. 46-59.

KUHN, I.; IVERSEN, A.; BURMAN, L. G.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; FRANKLIN, A.; FINN, M.; AARESTRUP, F.; SEYFARTH, A. M.; BLANCH, A. R.; VILANOVA, X.; TAYLOR, H.; CAPLIN, J.; MORENO, M. A.; DOMINGUEZ, L.; HERRERO, I. A.; LAMKA, K.G.; LeCHEVALLIER, M.W.; SEIDLER, R.J. (1980). *"Bacterial contamination of drinking water supplies in a modern rural neighborhood."* Applied and Environmental Microbiology, v.39, n.4, pp.734-738.

MANFRINATO, E.S. (1989). *"Avaliação do método edafo-fitodepuração para tratamento preliminar de águas"*. Tese de doutorado apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP.

OTTOSON, J.; NORSTROM, A.; DALHAMMAR, G. (2005). *"Removal of mocro-organisms in a small-scale hydroponics wastewater treatment system"*. Letters in Applied Microbiology, v. 40, pp. 443-447.

RANZANI-PAIVA, M.J.T. ISHIKAWA, C.M. CAMPOS, B.E.S. EIRAS, A.C. (1997). *"Haematological characteristics associated with parasitism in mullets, Mugil platanus, from the*

estuarine region of Cananéia, São Paulo, Brazil". Revista Brasileira de Zoologia**,** v. 14, n. 2, pp. 329-339..

ROMITELLI, M.S. (1983). *"Remoção de fósforo em efluentes secundários com emprego de macrófitas aquáticas do gênero Eichhornia."* Revista DAE, v. 133, pp. 66-68.

SALATI, E. (2000). *"Utilização de sistemas de Wetlands construídas para tratamento de águas"*. Relatório técnico para o programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental da EESC, São Carlos, 36p.

TRIPATHI, B.D., SHUKLA, S.C. (1991). *"Biological treatment of wastewater by selected aquatic plants."* Environmental Pollution, v. 69, pp. 69-78.

VAN KAICK, T.S. (2002). *"Estação de tratamento de esgoto por meio de zona de raízes: uma proposta de tecnologia apropriada para saneamento básico no litoral do Paraná, Curitiba"*. Dissertação de mestrado apresentada ao Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná.

WEBER, A.S.; TCHOBANOGLOUS, M. (1985). *"Nitrification in water hyacinth treatment systems."* Journal of Environmental Engineering, v. 11, n. 5, pp. 699-713.

WOLVERTON, B. C. McDONALD, R. C. (1979). "Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) productivity and harvesting studies." Economical. Botanic, v. 33, n. 1, pp. 1-10.

WRIGTH, S.F.; WEAVER, R.W. (1981). *"Enumeration and identification of nitrogen-fixiging bacteria from forage grass roots"*. Applied and Environment Microbiology. V. 42, pp. 97-101.